

국내 4개 대학병원에서 분리된 Plasmid-Mediated AmpC β -Lactamase 생성 *Klebsiella pneumoniae*의 역학

송원근¹ · 김재석¹ · 이창훈² · 이종욱³ · 이경원⁴

한림대학교 의과대학 진단검사의학교실¹, 건국대학교 의과대학 진단검사의학교실²,
건양대학교 의과대학 진단검사의학교실³, 연세대학교 의과대학 진단검사의학교실⁴

Epidemiology of Plasmid-Mediated AmpC β -Lactamase Produced by Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* from Four University Hospitals in Korea

Wonkeun Song¹, Jae-Seok Kim¹, Chang-Hoon Lee², Jongwook Lee³, and Kyungwon Lee⁴

Departments of Laboratory Medicine, Hallym University College of Medicine, Seoul¹; Kon Kuk University College of Medicine, Choongju²;
Konyang University College of Medicine, Daejeon³; and Yonsei University College of Medicine, Seoul⁴, Korea

Background: Plasmid-mediated AmpC β -lactamases (PABLs) are cephalosporinases that confer resistance to a wide variety of β -lactam drugs and that may thereby create serious therapeutic problems. The PABL-producing organisms are a major concern in nosocomial infections and should therefore be monitored in surveillance studies.

Methods: During the period of May to July 2004, 27 cefoxitin non-susceptible isolates of *Klebsiella pneumoniae* from four university hospitals (Seoul 2, Daejeon 1, and Choongju 1) were tested for antimicrobial susceptibility by the broth microdilution method. The cefoxitin non-susceptible isolates were further investigated by the double disk synergy test for extended-spectrum β -lactamases, multiplex AmpC PCR, DNA sequencing, and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE).

Results: PABL-producing *K. pneumoniae* were found in all the four hospitals. Eight (32%) of 25 PABL producers were also tested positive by double disk synergy tests. Susceptibilities of the PABL producers were as follows: ceftazidime, 4%; aztreonam, 36%; cefepime, 76%; and imipenem, 100%. Among the 25 *K. pneumoniae* isolates were 24 DHA-1 and 1 CMY-1 β -lactamase producers. The PFGE patterns of the DHA-1-producing *K. pneumoniae* showed variable as well as identical patterns.

Conclusion: PABL-producing *K. pneumoniae* is widespread among medical institutions in Korea. A DHA-1 type in *K. pneumoniae* was the predominant enzyme detected. Overall, despite many different PFGE patterns of the PABL producers, some outbreak and epidemic clones appear to be prevalent in some hospitals in Korea. For the prevention of the spread of PABL-producing *K. pneumoniae*, it should be identified accurately by the clinical laboratory.

Keywords: Plasmid-mediated AmpC β -lactamase, *Klebsiella pneumoniae*, DHA-1

서론

접수일: 2007년 10월 15일
게재승인일: 2007년 11월 29일
교신저자: 송원근, 150-071 서울시 영등포구 대림1동
948-1 한림대학교 강남성심병원 진단검사의학과
Tel: 02-829-5259, Fax: 02-847-2403,
E-mail: swonkeun@hallym.or.kr

AmpC β -lactamase는 class C, group 1에 속하는 β -lactamase이며 β -lactamase 억제제에 억제되지 않고 cephamycin제를 가수분해한다는 점에서 extended-spectrum β -lactamase (ESBL)와 다르다[1].

염색체성 AmpC β -lactamase는 유도성(inducible) 또는 구조성(constitutive)으로 발현되며 유도성 AmpC β -lactamase 생성균주는 보통 저농도로 생성되나 고농도로 생성되기도 한다[2]. *Enterobacter* spp., *Hafnia alvei*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Providencia* spp., *Aeromonas* spp. 등이 선천적으로 염색체에 *ampC* 유전자를 갖고 있기 때문에 유도성 AmpC β -lactamase를 생성하는 균종이다[3]. *ampD* 유전자의 소실로 인한 탈억제(derepressed) 돌연변이가 생길 수도 있는데, 이 경우에는 고농도의 구조성인 AmpC β -lactamase를 생성하여 carbapenem제와 제4세대 cephalosporin제를 제외한 모든 β -lactam제에 내성을 보이게 되나 temocillin과 amidinocillin (mecillinam)은 유의한 영향을 받지 않는다[4].

1989년 Bauernfeind 등[5]이 한국에서 분리된 *Klebsiella pneumoniae*가 penicillin제, oxyimino-cephalosporin제, monobactam제뿐만 아니라 cefoxitin과 cefotetan에도 내성이며 이 내성이 *Escherichia coli*에 전달됨을 밝혀내면서 이 효소를 CMY-1이라고 명명하였는데, 이것이 최초로 밝혀진 plasmid-mediated AmpC β -lactamase (PABL)이다. Papanicolaou 등[6]은 α -methoxy- β -lactam제와 oxyimino- β -lactam제의 내성이 전달되는 MIR-1 효소를 발견하였으며 이 효소가 *Enterobacter cloacae*의 *ampC* 유전자와 90% 유사함을 밝혀내었다. 이후 현재까지 ACC, FOX, CMY, DHA, MOX, LAT, BIL, ACT 및 MIR형과 같은 약 30여종 정도의 PABL 효소가 보고되었다[7]. 이 효소들은 *E. cloacae*, *C. freundii*, *M. morganii*, *H. alvei* 등에서 유래한 것으로 밝혀졌으며, 주로 *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella* 등에서 발견되고 있다[5]. 이 유전자는 큰 플라스미드에 위치하여 다른 계열의 항균제도 함께 내성인 경우가 많다. PABL은 아직까지 ESBL 생성균주보다 그 빈도가 적지만 ESBL과 마찬가지로 유전자가 플라스미드에 있기 때문에 다른 균주로의 전파가 용이하여 역학연구나 병원감염 관리의 측면에서 매우 중요하다.

저자들은 PABL을 가장 흔히 생성하는 것으로 알려져 있는 *K. pneumoniae*를 대상으로 국내의 4개 대학병원에서 분리된 PABL 생성균주의 항균

제감수성 양상, 역학 및 유전자형의 종류와 분포 등을 분석하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상균주

한국의 4개 대학병원(서울 2개, 대전 1개, 충주 1개)에서 2004년 5월에서 7월 사이에 반복 분리되지 않은 *K. pneumoniae* 중에서 각 병원에서 실시한 감수성시험 결과 cefoxitin에 비감수성을 보인 균주를 수집하였다. 이 균주가 분리된 환자의 지역, 검체, 연령, 성 등을 의무 기록을 통해 조사 분석하였다.

2. PCR과 DNA sequencing

Perez-Perez와 Hanson[7]이 고안한 AmpC multiplex PCR을 약간 변형하여 *ampC* 유전자를 검출하였다. 혈액한천배지에 계대배양된 대상균주의 집락 4-5개를 Brain Heart Infusion 액체배지에 풀어서 15분간 $10,000 \times g$ 로 원심분리하여 상층액을 버리고 $500 \mu L$ 멸균증류수로 재 부유시킨 다음 $95^{\circ}C$ 에서 10분간 가열하여 세포를 파괴시키고 15분간 $10,000 \times g$ 로 원심분리하여 상층액 $2 \mu L$ 를 PCR에 이용하였다. PCR은 최종 부피가 $20 \mu L$ 가 되게 하였다. 각각의 반응에는 $20 mM$ Tris-HCl (pH 8.4); $50 mM$ KCl; 각각의 $0.2 mM$ dNTP; $16 mM$ $(NH_4)_2SO_4$; $1.5 mM$ $MgCl_2$; 각각의 $10 pM$ primer MOXMF, MOXMR, CITMF, CITMR, DHAMF, DHAMR, ACCMF, ACCMR, EBCMF, EBCMR, FOXMF, FOXMR; $1 U$ Taq DNA polymerase (Bioline, Luckenwalde, Germany)가 포함되었다. 각각의 DNA ($2 \mu L$)에 $18 \mu L$ 의 반응액을 넣었다. PCR 프로그램은 처음 denaturation이 $94^{\circ}C$, 5분, 그 다음 cycle은 denaturation $94^{\circ}C$, 30초; annealing $64^{\circ}C$, 30초; extension $72^{\circ}C$, 1분간 25 cycle 시행하고 마지막 extension은 $72^{\circ}C$, 7분간으로 하였다. PCR 산물은 2% agarose (Qbiogene Inc., Carlsbad, CA, USA)에 전기영동하여 분석하였다. Gel은 $10 \mu g/mL$ 의 ethidium bromide로 염색하였고 자외선 투사기로 판독하였다. 100-bp DNA ladder (Bioneer, 대전)를 marker로 사용하였다. AmpC multiplex PCR에서 양성을 보인 균주에

대해 이전의 연구[8]에서 이용한 primer를 이용하여 DNA sequencing을 시행한 후 BLAST program (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)으로 염기서열을 배열하고 분석하였다.

3. 감수성시험과 ESBL 검출시험

최소억제농도(minimal inhibitory concentration, MIC)는 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)에 따른 액체배지미량희석법을 이용하여 측정하였다[9]. 시험항균제로는 cefoxitin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), ceftazidime (GlaxoSmithKlein, Harlow, UK), cefepime (보령제약, 서울), aztreonam (Bristol-Myers Squibb Co., Princeton, NJ, USA), imipenem (Merck and Co., Inc., West Point, PA, USA)을 사용하였다. 35°C에서 18시간 배양한 후 MIC를 판정하였고 정도관리를 위하여 *E. coli* ATCC 25922를 이용하여 동시에 시험하였다.

ESBL 생성 유무를 판별하기 위해 double disk synergy (DDS) 시험[10]을 시행하였다. DDS 시험은 중앙에 amoxicillin-clavulanate를, 그 주변에는 cefotaxime, ceftazidime, cefepime, aztreonam을 놓았다. 중앙과 주변 디스크의 가장자리 간격은 15 mm가 되게 하였다. 두 디스크 사이에서 상승효과에 의한 억제대의 확장현상이 관찰되면 ESBL 양성으로 판독하였다.

4. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) 분석

Birren과 Lai[11]의 PFGE 방법에 따라 시행하였다. *Xba*I 제한효소로 처리한 agarose plug를 1% agarose gel (SeaKem Gold Agarose, FMC Bioproducts, Rockland, ME, USA)의 홈에 넣었다. Size marker로는 Yeast chromosome, *Saccharomyces cerevisiae* (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)를 사용하였다. Contour-clamped homogeneous field machine (CHEF-DRII, Bio-Rad Laboratories)으로 6

Table 1. Characteristics of the 25 plasmid-mediated AmpC β -lactamase producing *K. pneumoniae* isolates studied

| Patient no. | Age/Sex | Ward | Source | Location | Strain no. | AmpC type | DDS | Associated resistance* |
|-------------|---------|------|---------------|----------|------------|-----------|-----|------------------------|
| 1 | 61/M | ICU | Wound | Seoul | KN80 | DHA-1 | P | R/R/R/R/S |
| 2 | 2/F | IPD | Urine | Seoul | KN89 | DHA-1 | N | S/R/R/S/R |
| 3 | 68/M | IPD | Wound | Seoul | KN103 | DHA-1 | P | R/R/R/R/S |
| 4 | 15/M | ICU | Wound | Seoul | KD114 | DHA-1 | N | S/S/R/R/S |
| 5 | 48/M | ICU | Urine | Seoul | KD116 | CMY-1 | N | R/R/R/R/R |
| 6 | 78/M | IPD | Wound | Seoul | KD120 | DHA-1 | N | S/R/I/I/S |
| 7 | 80/F | ICU | Ascitic fluid | Seoul | KD122 | DHA-1 | N | S/R/R/R/R |
| 8 | 49/M | IPD | Wound | Seoul | KD125 | DHA-1 | N | I/S/R/S/S |
| 9 | 74/M | ICU | Urine | Seoul | KD126 | DHA-1 | P | R/R/R/R/R |
| 10 | 58/M | ICU | Wound | Seoul | KD129 | DHA-1 | N | S/S/R/S/R |
| 11 | 54/M | IPD | Sputum | Seoul | KD130 | DHA-1 | P | R/R/R/R/R |
| 12 | 82/M | IPD | Urine | Seoul | KD131 | DHA-1 | N | S/S/R/S/S |
| 13 | 83/F | IPD | Sputum | Daejeon | KY1 | DHA-1 | N | S/S/R/S/S |
| 14 | 71/M | IPD | Sputum | Daejeon | KY2 | DHA-1 | N | S/S/R/S/R |
| 15 | 62/M | IPD | Sputum | Daejeon | KY3 | DHA-1 | N | S/S/R/S/R |
| 16 | 51/M | IPD | Sputum | Daejeon | KY4 | DHA-1 | N | S/S/I/I/S |
| 17 | 54/F | IPD | Urine | Daejeon | KY5 | DHA-1 | N | S/R/R/S/R |
| 18 | 73/M | IPD | Sputum | Daejeon | KY6 | DHA-1 | P | S/R/R/R/R |
| 19 | 63/M | IPD | Sputum | Daejeon | KY10 | DHA-1 | N | S/S/R/S/R |
| 20 | 59/F | IPD | Sputum | Daejeon | KY11 | DHA-1 | N | S/R/R/S/R |
| 21 | 73/F | IPD | Sputum | Daejeon | KY13 | DHA-1 | P | R/R/R/R/R |
| 22 | 54/M | IPD | Sputum | Daejeon | KY14 | DHA-1 | N | S/S/R/S/R |
| 23 | 46/M | ICU | Bile juice | Choongju | CJ1 | DHA-1 | N | R/R/R/R/S |
| 24 | 65/F | OPD | Bile juice | Choongju | CJ3 | DHA-1 | P | R/R/R/R/S |
| 25 | 75/F | IPD | Bile juice | Choongju | CJ5 | DHA-1 | P | R/R/R/R/S |

* Antibiogram: amikacin/gentamicin/tobramycin/ciprofloxacin/cotrimoxazole.

Abbreviations: IPD, inpatient department; OPD, outpatient department; ICU, intensive care unit; M, male; F, female; S, susceptible; I, intermediate; R, resistant; P, positive; N, negative; DDS, double disk synergy test.

V/cm, switch time 0.5-54초로 20시간 전기 영동하였다. Ethidium bromide 1 mg/mL 용액으로 30분간 염색 후, 20분간 탈색하고, 자외선 조명하에서 촬영하였다.

DNA band형을 BioNumerics 프로그램(Uvitech Ltd., Cambridge, England)을 이용하여 분석하고 균주 간의 유연관계를 파악하였다.

결 과

1. β -lactamase 검출시험과 역학

27주의 cefoxitin 비감수성 *K. pneumoniae* 중 25주(92.6%)가 PABL 생성균주였고 4개 병원 모두에서 분리되었다. 이중 DDS 시험에도 양성인 균주는 8주(32%)이었다. CMY-1형인 1주의 *K. pneumoniae*를 제외한 24주(96%)가 DHA-1형이었다(Table 1).

PABL 생성 *K. pneumoniae* 중 객담, 창상 및 요검체에서 각각 10주(40%), 6주(24%) 및 5주(20%)가 분리되었다. 입원 환자가 24명(중환자실, 7명; 일반병동, 17명)이었고 외래환자가 1명이었다. 나이는 2세부터 83세까지 분포하였고 평균 나이는 60세이었다. 남녀의 성비는 2.1:1이었다.

Aminoglycoside계 중에서 모든 대상 항균제(amikacin, gentamicin, tobramycin)에 내성인 균주가 9주(36%)이었다. Ciprofloxacin과 cotrimoxazole에 내성인 균주는 각각 12주(48%)와 9주(36%)이었다(Table 1).

2. 감수성시험

액체배지미량희석법에 의한 MIC 결과, 25주의 PABL 생성 *K. pneumoniae*의 MIC_{50/90}은 cefoxitin, ceftazidime, aztreonam, cefepime 및 imipenem이 각각 512/>512, 128/>512, 16/256, 1/16 및 0.25/1 μ g/mL이었다. 감수성률은 ceftazidime, aztreonam, cefepime 및 imipenem이 각각 4, 36, 76 및 100%이었다. 대상지역별로 각 항균제별 MIC는 서로 유사하였다 (Table 2).

3. PFGE

분석이 가능했던 22주의 DHA-1 생성 *K. pneumoniae*를 대상으로 PFGE 분석을 실시하였다. DHA-1 생성균주들은 전체적으로 다양한 PFGE형으로 나타났으나 서울의 1개병원과 대전지역의 병원에서 분리된 균주에서는 동일한 PFGE형들도 관찰되었다.

Table 2. The susceptibility data for 25 plasmid-mediated AmpC β -lactamase-producing *K. pneumoniae* isolates

| Location and agent (no. of isolates) | MIC | | | % Susceptible |
|--------------------------------------|-------------|------|------|---------------|
| | Range | 50% | 90% | |
| Seoul (12) | | | | |
| Cefoxitin | 256 - 512 | 512 | >512 | 0 |
| Ceftazidime | 4 - >512 | 32 | >512 | 8 |
| Cefepime | <0.25 - 16 | 1 | 16 | 75 |
| Aztreonam | 2 - 512 | 16 | 256 | 42 |
| Imipenem | <0.25 - 0.5 | 0.25 | 0.5 | 100 |
| Daejeon & Choongju (13) | | | | |
| Cefoxitin | 256 - >512 | 512 | >512 | 0 |
| Ceftazidime | 16 - >512 | 128 | >512 | 0 |
| Cefepime | <0.25 - 32 | 0.5 | 16 | 77 |
| Aztreonam | 1 - 256 | 64 | 256 | 31 |
| Imipenem | <0.25 - 1 | 0.25 | 1 | 100 |
| Total (25) | | | | |
| Cefoxitin | 256 - >512 | 512 | >512 | 0 |
| Ceftazidime | 4 - >512 | 128 | >512 | 4 |
| Cefepime | <0.25 - 32 | 1 | 16 | 76 |
| Aztreonam | 1 - 512 | 16 | 256 | 36 |
| Imipenem | <0.25 - 1 | 0.25 | 1 | 100 |

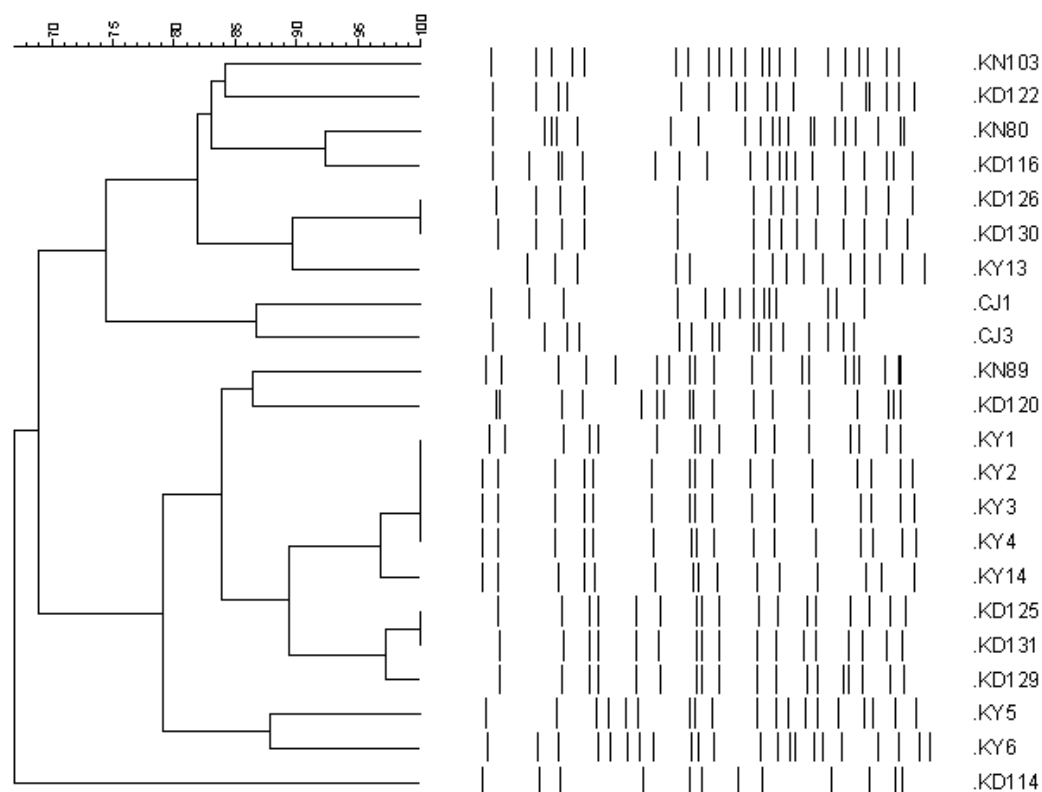


Fig. 1. Dendrograms of *Xba*I-digested chromosomal DNA of 22 DHA-1-producing *K. pneumoniae* isolates. The scale indicates the percent genetic similarity. The numbers on the right of each lane correspond to the clinical isolate numbers.

고 찰

PABL은 염색체에 *ampC*를 갖고 있으나 *ampR*이 없어서 AmpC β -lactamase가 유도되지 않는 *E. coli*와 선천적으로 염색체에 *ampC* 유전자가 없는 *Klebsiella* spp., *P. mirabilis*, *Salmonella* spp.에서 생성될 수 있다[12-14]. 1996년 1월부터 1997년 2월 사이에 그리스의 10개 병원에서 분리된 2,133주의 *E. coli*에서 63주(3%)가 cefoxitin의 내성기준인 억제대 14 mm 이하이었고, 이 중 8주는 외막 단백질의 결핍에 의한 것이었고 나머지 55주(2.6%)는 PABL 생성에 의한 내성이었다[15]. 2001년에서 2002년 사이에 미국 전역에서 분리된 6,421주의 *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *P. mirabilis*, *Salmonella*에서는 *K. pneumoniae*의 3.3%가 PABL 생성균주이었고 그 중 대부분이 동부에 속한 주에서 분리되어 아직은 지역적으로 편중되어 있으나 그 빈도는 증가 추세이다[16]. 2002년 한국에서 분리된 367주의 *K. pneumoniae*에서는 61주

(16.6%)가 cefoxitin 비감수성 균주이었고 이중 20주(5.4%)가 PABL 생성균주이었다[17]. AmpC β -lactamase를 생성하지 않는 균주가 cefoxitin에 내성을 보이는 것은 porin의 결핍에 의한 것으로 알려져 있다[18]. 이번 연구에서는 cefoxitin 비감수성 *K. pneumoniae*의 92.6%가 PABL 생성균주이었다. 따라서 cefoxitin에 비감수성인 27주 중 PABL 생성균주인 25주를 제외한 2주는 porin의 결핍에 의한 내성일 가능성이 크다고 하겠다. 이 연구에서 25주의 PABL 생성균주는 객담검체 및 입원환자에서 분리된 것이 각각 40%와 96%로 가장 많았다. 이는 PABL 생성균주가 요검체(65%)와 입원환자(57%)에서 가장 흔하게 분리되었다고 보고한 스페인[19]의 경우와 차이를 보였다.

PABL 생성균주는 aztreonam에도 활성이 있으나 MIC가 감수성 범위에 속하는 경우가 종종 있다. Cefepime과 cefpirome은 대부분 감수성이고 carbapenem제에는 영향을 미치지 못한다[4]. 이 연구에서는 cefoxitin의 MIC가 모두 128 μ g/mL

이상이었다. Ceftazidime, aztreonam에 대한 MIC 결과는 다양하였으나 이 중 aztreonam의 MIC가 감수성 범위에 속하는 경우가 더 많았다. 최근 들어 한 군주가 여러 종류의 ESBL 유전자를 갖고 있는 것은 물론이고 ESBL과 PABL을 함께 갖고 있는 경우에 관한 보고가 증가하고 있다[20-22]. 미국의 경우 PABL 생성 *K. pneumoniae* 28주 중 17주(61%)가 ESBL도 함께 생성하는 군주였고[19], 저자들의 경우는 PABL 생성균주 중 8주(32%)가 DDS 시험에 양성을 보여 ESBL을 함께 갖고 있는 군주로 생각되었다. 최근 들어 PABL과 ESBL을 함께 생성하는 균주들이 증가함으로 인해 이를 검출하는 것이 더욱 어려워지고 있으며 이로 인해 치료에도 더욱 큰 문제를 야기하고 있다.

PABL 생성균주의 검출법으로 비교적 정확하고 간편한 방법인 3차원 추출(three-dimensional extract) 시험[23], 변법 Hodge 시험[24], AmpC disk 시험[25], AmpC 억제제 시험[26-28] 등이 개발되었다. 또한 Perez-Perez와 Hanson[7]은 *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* 및 *S. enterica* serovar Typhimurium에 대하여 지금까지 발견된 29종의 PABL 유전자형을 6개 군으로 분류하여 검출할 수 있는 6개 set의 *ampC*-specific primer를 이용한 PCR을 개발하여 그 유용성을 입증한 바 있다. 이번 연구에서도 이 방법을 이용하여 PCR을 시행한 결과 *K. pneumoniae*에서는 MOX군 유전자형인 1주의 *K. pneumoniae*를 제외한 47주 모두 DHA군 유전자형이었다. DNA sequencing을 시행한 결과 DHA 및 MOX 양성균주는 각각 DHA-1 및 CMY-1형이었다. 결과적으로 *Klebsiella* spp.에서는 DHA-1형이 대부분이었다. 이는 같은 극동지역인 대만의 경우와 유사하였으나[29] 미국은 FOX형(82%)이 가장 흔하여[16] 지역에 따라 서로 다른 형의 PABL이 유행함을 알 수 있다. 대부분의 PABL은 염색체성 AmpC β -lactamase와는 달리 구성적으로 내성이 표현되는 것이 특징이나 PABL 중에서도 DHA-1, DHA-2, ACT-1은 유도성 내성을 나타낸다[30-32]. DHA-1과 같은 유도성인 PABL 생성균주의 임상적 의의는 아직 연구가 적어 정확히 밝혀지지 않은 상태이다. DHA-1 생성균주는 oxyimino-cephalosporin제에 감수성 결과를 보이기도 하지만 cefoxitin이나 clavulanate에 의해 감수성

이 저하되며 cefepime과 imipenem은 clavulanate에 의한 감수성의 저하가 거의 없다[30,33]. 따라서 DHA-1 생성균주는 4세대 cephalosporin제나 carbapenem제가 가장 좋은 선택약제일 가능성이 크다고 하겠다.

PFGE 분석에서 4개 대학병원에서 분리된 DHA-1 생성 *K. pneumoniae*가 다양한 양상을 보였으나 서울의 1개병원과 대전지역의 병원 균주에서는 서로 다른 병동의 환자에서 분리된 균주가 동일한 유형을 보여 단일클론에 의한 전파가 있는 것으로 나타나 원내 토착화나 집단감염이 발생한 것으로 생각되었다.

결론적으로 한국은 선진국에 비해 PABL 생성 *K. pneumoniae*의 빈도가 높았고 DHA-1형이 대부분을 차지하였다. 또한 병원에 따라 집단감염이나 원내 토착화가 이뤄지고 있는 것으로 보인다. 따라서 임상미생물검사실에서는 이 균주에 대한 정확하고 신속한 검출과 병원감염의 관리에 많은 주의가 필요할 것으로 생각된다.

요 약

배경: Plasmid-mediated AmpC β -lactamase (PABL)는 β -lactam제에 광범위하게 내성을 나타내어 환자의 치료에 심각한 문제를 초래할 수 있는 cephalosporinase의 일종이므로 병원감염의 주요 관심대상이 되고 있다. 이에 저자들은 한국의 임상검체에서 분리되는 장내세균에 대한 PABL 생성 *Klebsiella pneumoniae*의 역학과 유전자형의 분포에 대해서 연구하고자 하였다.

방법: 국내의 4개 대학병원(서울 2개, 대전 1개, 충주 1개)의 환자에서 분리된 27주의 cefoxitin 비감수성 *K. pneumoniae*를 대상으로 미량액체배지 희석법에 의한 항균제감수성시험을 시행하였고 double disk synergy (DDS) 시험, multiplex AmpC PCR, DNA sequencing 및 pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)를 시행하였다.

결과: 25주가 PABL 생성 *K. pneumoniae*이었으며 모든 대상 병원에서 PABL 생성균주가 분리되었다. 이 중 8주 (32%)는 DDS 시험에도 양성이었다. PABL 생성 *K. pneumoniae*의 감수성은 다음과 같았다: ceftazidime 4%, aztreonam 36%,

cefepime 76%, imipenem 100%. 24주는 DHA-1형이었고 1주는 CMY-1형이었다. DHA-1 생성 *K. pneumoniae*에 대한 PFGE 분석 결과 다양한 유형을 보였으나 동일한 유형도 나타났다.

결론: PABL 생성 *K. pneumoniae*가 모든 병원에서 발생하고 있으며 DHA-1형이 대부분이었다. PFGE 결과 병원에 따라 집단감염이나 원내 토착화가 이뤄진 것으로 나타났다. 따라서 임상미생물검사실에서는 PABL 생성 *K. pneumoniae*의 전파를 방지하기 위해 이 균주의 정확한 검출이 필요할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:1211-33.
2. Sanders CC. Chromosomal cephalosporinases responsible for multiple resistance to newer β -lactam antibiotics. *Annu Rev Microbiol* 1987; 41:573-93.
3. Livermore DM. β -Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995;8: 557-84.
4. Philippon A, Arlet G, Jacoby GA. Plasmid-determined AmpC type β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:1-11.
5. Bauernfeind A, Chong Y, Lee K. Plasmid-encoded AmpC β -lactamases: how far have we gone 10 years after the discovery? *Yonsei Med J* 1998;39:520-9.
6. Papanicolaou GA, Medeiros AA, Jacoby GA. Novel plasmid-mediated β -lactamase (MIR-1) conferring resistance to oxyimino- and α -methoxy β -lactams in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1990;34:2200-9.
7. Perez-Perez FJ and Hanson ND. Detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 2002;40:2153-62.
8. Song W, Kim JS, Kim HS, Yong D, Jeong SH, Park MJ, et al. Increasing trend in the prevalence of plasmid-mediated AmpC β -lactamases in Enterobacteriaceae lacking chromosomal *ampC* genes at a Korean hospital from 2002 to 2004. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006;55:219-24.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 12th informational supplement, M100-S12. Wayne, Pa.: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002.
10. Brun-Buisson C, Legrand P, Philippon A, Montravers F, Ansquer M, Duval J. Transferable enzymatic resistance to third-generation cephalosporins during nosocomial outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. *Lancet* 1987;ii:302-6.
11. Birren B and Lai E. Pulsed-field gel electrophoresis, a practical guide. Academic press, Inc., San Diego, 1993.
12. Honore N, Nicolas MH, Cole ST. Inducible cephalosporinase production in clinical isolates of *Enterobacter cloacae* is controlled by a regulatory gene that has been deleted from *Escherichia coli*. *EMBO J* 1986;5:3709-14.
13. Morosini MI, Ayala JA, Baquero F, Martinez JL, Blazquez J. Biological cost of AmpC production for *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:3137-43.
14. Medeiros A. Evolution and dissemination of β -lactamases accelerated by generations of β -lactam antibiotics. *Clin Infect Dis* 1997;24: S19-S45.
15. Gazouli M, Tzouveleakis LS, Vatopoulos AC, Tzelepi E. Transferable class C β -lactamases in *Escherichia coli* strains isolated in Greek hospitals and characterization of two enzyme variants (LAT-3 and LAT-4) closely related to *Citrobacter freundii* AmpC β -lactamase. *J Antimicrob Chemother* 1998;42:419-25.

16. Moland ES, Hanson ND, Black JA, Hossain A, Song W, Thomson KS. Prevalence of newer β -lactamases in Gram-negative clinical isolates collected in the United States from 2001 to 2002. *J Clin Microbiol* 2006;44:3318-24.
17. Song W, Kim JS, Kim MN, Kim EC, Park YJ, Yong D, et al. Occurrence and genotypic distributions of plasmid-mediated AmpC β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Korea. *Korean J Lab Med* 2002;22:410-6.
18. Ardanuy C, Linares J, Dominguez MA, Hernandez-Alles S, Benedi VJ, Martinez-Martinez L. Outer membrane profiles of clonally related *Klebsiella pneumoniae* isolates from clinical samples and activities of cephalosporins and carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:1636-40.
19. Navarro F, Perez-Trallero E, Marimon JM, Aliaga R, Gomariz M, Mirelis B. CMY-2-producing *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli* strains isolated in Spain (October 1999-December 2000). *J Antimicrob Chemother* 2001;48:383-9.
20. Kim JM, Jeong SH, Lee SH, Kim JH, Kim BN, Kim JC. Prevalence and mechanism of third-generation cephalosporins-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from clinical specimen. *Korean J Clin Microbiol* 2002;5:6-14.
21. Hanson ND, Thomson KS, Moland ES, Sanders CC, Berthold G, Penn RG. Molecular characterization of a multiply resistant *Klebsiella pneumoniae* encoding ESBLs and a plasmid-mediated AmpC. *J Antimicrob Chemother* 1999;44:377-80.
22. Yan JJ, Wu SM, Tsai SH, Wu JJ, Su IJ. Prevalence of SHV-12 among clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum β -lactamases and identification of a novel AmpC enzyme (CMY-8) in Southern Taiwan. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:1438-42.
23. Coudron PE, Moland ES, Thomson KS. Occurrence and detection of AmpC beta-lactamases among *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis* isolates at a Veterans Medical Center. *J Clin Microbiol* 2000;38:1791-6.
24. Yong D, Park R, Yum JH, Lee K, Choi EC, Chong Y. Further modification of the Hodge test to screen AmpC β -lactamase (CMY-1) -producing strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *J Microbiol Methods* 2002;51:407-10.
25. Black JA and Thomson KS. A simple disk test for detection of plasmid-mediated AmpC production in *Klebsiella*. *Abstr. 42nd Intersci Conf Antimicrob Agents Chemother*.
26. Yagi T, Wachino J, Kurokawa H, Suzuki S, Yamane K, Doi Y, et al. Practical methods using boronic acid compounds for identification of class C β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 2005;43:2551-8.
27. Black JA, Thomson KS, Buynak JD, Pitout JDD. Evaluation of β -lactamase inhibitors disk tests for detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamases in well-characterized clinical strains of *Klebsiella* spp. *J Clin Microbiol* 2005;43: 4168-71.
28. Song W, Jeong SH, Kim JS, Kim HS, Shin DH, Roh KH, et al. Use of boronic acid disk methods to detect the combined expression of plasmid-mediated AmpC β -lactamases and extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp., and *Proteus mirabilis*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;57:315-8.
29. Yan JJ, Hsueh PR, Lu JJ, Chang FY, Shyr JM, Wan JH, et al. Extended-spectrum β -lactamases and plasmid-mediated AmpC enzymes among clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from seven medical

- centers in Taiwan. Antimicrob Agents Chemother 2006;50:1861-4.
30. Fortineau N, Poirel L, Nordman P. Plasmid-mediated and inducible cephalosporinase DHA-2 from *Klebsiella pneumoniae*. J Antimicrob Chemother 2001;47:207-10.
31. Barnaud G, Arlet G, Verdet C, Gaillot O, Lagrange PH, Philippon A. *Salmonella enteritidis*: AmpC plasmid-mediated inducible β -lactamase (DHA-1) with an *ampR* gene from *Morganella morganii*. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42:2352-8.
32. Reisbig MD and Hanson ND. The ACT-1 plasmid-encoded AmpC β -lactamase is inducible: detection in a complex β -lactamase background. J Antimicrob Chemother 2002;49:557-60.
33. Yan JJ, Ko WC, Jung YC, Chuang CL, Wu JJ. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* isolates producing inducible DHA-1 β -lactamase in a university hospital in Taiwan. J Clin Microbiol 2002;40:3121-6.